

Aus dem medizinischen Zentrum für Innere Medizin

der Philipps- Universität Marburg

Abteilung für Kardiologie

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. B. Maisch

Prognostische Bedeutung
morphometrischer endomyokardialer Biopsieanalysen
bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades in der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps – Universität

Marburg

vorgelegt von

Sylvia Rudolph

aus Kassel

Marburg 2004

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps – Universität Marburg am 22.04.2004

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

<u>Dekan</u> :	Prof. Dr. med. B. Maisch
<u>Referent</u> :	Prof. Dr. med. W. Grimm
<u>Korreferent</u> :	Prof. Dr. med. R. Moll

Meinen Eltern und Grosseltern

in Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Fragestellung	1
2.	Patienten und Methodik	2
2.1.	Ein- und Ausschlusskriterien	2
2.2.	Analyse der Endomyokardbiopsien	3
3.	Ergebnisse	8
3.1.	Klinische Charakteristika der untersuchten Patienten	8
3.2.	Zusammenhang zwischen der morphometrischen Biopsieanalyse und arrhythmischen Ereignissen	10
3.3.	Zusammenhang zwischen der morphometrischen Biopsieanalyse und dem transplantatfreien Überleben	14
4.	Diskussion	17
4.1.	Übersicht und Vergleich mit bisher durchgeführten Studien	17
4.2.	Diskussion der morphometrischen Ergebnisse	20
5.	Zusammenfassung	24
6.	Literaturverzeichnis	25
7.	Anhang	35

Verwendete Abkürzungen:

DCM	Dilatative Kardiomyopathie
EKG	Elektrokardiogramm
NYHA	New York Heart Association
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
LV	Linksventrikulär
RV	Rechtsventrikulär

1. Einleitung und Fragestellung

Nahezu die Hälfte aller Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie verstirbt unerwartet am plötzlichen Herztod. Aufgrund von Langzeit- EKG Registrierungen von Patienten, die zufällig zum Zeitpunkt des plötzlichen Herztodes ein Langzeit- EKG zu Hause trugen, wissen wir, dass schnelle Kammertachykardien und Kammerflimmern die häufigste Ursache für den plötzlichen Herztod ist (1).

Bei Patienten mit erfolgreicher Reanimation nach Kammerflimmern hat sich mittlerweile die Implantation eines automatischen Defibrillators zur Therapie der ersten Wahl zur Rezidivprophylaxe entwickelt (2, 3). Leider führt bereits das erste Ereignis von Kammerflimmern bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie häufig zum Tod. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit einer prophylaktischen Defibrillatorimplantation bei Patienten mit hohem Risiko für den plötzlichen Herztod (1).

Bei Patienten mit DCM ist bislang nur bekannt, dass das Ausmass der linksventrikulären Pumpfunktion mit dem Risiko für den plötzlichen Herztod korreliert (4, 5). Allen Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie und deutlich eingeschränkter linksventrikulärer Pumpfunktion eine prophylaktische Defibrillatorimplantation zukommen zu lassen, ist bei einem derzeitigen Preis von circa 20.000 € pro Defibrillatorsystem nicht finanzierbar. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Arrhythmie-Risikostratifikation für die prophylaktische Defibrillatorimplantation weiter zu verbessern (6 - 15). Seit der Einführung von Endomyokardbiopsien im Jahr 1962 durch Sakakibara und Konno (15) hat die Durchführung von Endomyokardbiopsien bei der Diagnostik und Therapiekontrolle von Patienten mit nicht-inflammatorischer und inflammatorischer dilatativer Kardiomyopathie einen festen Stellenwert in entsprechend ausgewiesenen Zentren erhalten (16 - 20). Ob sich eine morphometrische Analyse des Fibrosegehaltes, sowie des Myofibrillengehaltes in Endomyocardiopsien als Risikoprädiktor für spätere arrhythmische Ereignisse eignet, ist bislang unbekannt. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Untersuchung eine geblindet durchgeführte, retrospektive quantitative Analyse von Endomyokardbiopsien durchgeführt, deren Ergebnisse bei einem grossen Patientenkollektiv mit DCM mit dem späteren Auftreten lebensbedrohlicher arrhythmischer Ereignisse und der Gesamtmortalität im Verlauf von 51 ± 22 Monaten korreliert wurde.

2. Patienten und Methodik

1.1. Ein- und Ausschlusskriterien

In diese Untersuchung wurden insgesamt 124 Patienten aus der prospektiven Marburger Kardiomyopathie Datenbank (21) eingeschlossen, die verschiedene Kriterien erfüllten. Zunächst wurde sichergestellt, dass eine geeignete Herzmuskelbiopsie guter Qualität vorlag, welche zwischen Dezember 1992 und Juni 1997 von erfahrenen Ärzten der Abteilung für Kardiologie der Philipps-Universität entnommen wurde. Die Entnahme der Probe erfolgte bei Einschluss in die Datenbank und wurde in allen Fällen aus der Wand im Bereich des inferioren linken Ventrikels entnommen. Die standardisierte Aufarbeitung der Probe direkt nach der Entnahme und die initiale Beurteilung erfolgte durch das Institut für Pathologie der Philipps-Universität Marburg. Zu den verschiedenen durchgeführten Färbungen gehörte in jedem Fall die Elastika-van-Gieson Färbung.

Die Diagnose einer dilatativen Kardiomyopathie war bei Aufnahme der Patienten in die Datenbank durch eine komplette nichtinvasive und invasive kardiologische Diagnostik gesichert. Hierzu gehörte eine ausführliche Anamneseerhebung, eine gründliche körperliche Untersuchung, ein 12-Kanal-Ruhe-Elektrokardiogramm, ein 24-Stunden-Langzeit-Elektrokardiogramm, eine sorgfältig durchgeführte Echokardiographie einschliesslich Farbdoppler-Echokardiographie, eine Herzkatheteruntersuchung einschliesslich Koronarangiographie, Rechtsherzkatheteruntersuchung, Linksherzkatheteruntersuchung und linksventrikulärer Endomyokardbiopsie.

Eingeschlossen in die vorliegende Studie wurden ausschliesslich Patienten, deren linksventrikuläre Auswurfleistung sowohl in der Linksherzkatheteruntersuchung, als auch in der Echokardiographie unter 45% betrug. Ausgeschlossen wurden Patienten mit koronarer Herzerkrankung, Patienten mit Herzklappenfehlern mit Ausnahme einer relativen Mitralklappeninsuffizienz aufgrund der Ventrikeldilatation, floride Myokarditiden nach den Dallas-Kriterien, sowie Patienten im Endstadium der Herzinsuffizienz NYHA IV. Ausgeschlossen wurden ferner Patienten mit anhaltenden Kammertachycardien oder Kammerflimmern in der Vorgeschichte, Patienten mit Verdacht auf arrhythmogene Synkope, sowie Patienten, die aufgrund ventrikulärer Rhythmusstörungen mit einem Antiarrhythmikum behandelt wurden. Schliesslich wurden auch Patienten

ausgeschlossen, deren Prognose aufgrund schwerwiegender Leber-, Nieren-, oder Schilddrüsenerkrankungen, Malignomen oder sonstigen Systemerkrankungen limitiert waren.

1.2. Analyse der Endomyokardbiopsien

Bei allen eingeschlossenen Patienten wurde bei Studieneinschluss eine Herzkatheteruntersuchung durch erfahrene Untersucher der Abteilung für Kardiologie der Philipps- Universität durchgeführt. Im Rahmen dieser Herzkatheteruntersuchung wurde zunächst eine standardisierte komplette Rechtsherzkatheteruntersuchung durchgeführt, gefolgt von einer Koronarangiographie zum Ausschluss einer signifikanten koronaren Herzerkrankung, sowie einer Lävokardiographie zur Darstellung der globalen und regionalen linksventrikulären Pumpfunktion, sowie einer etwaig vorhandenen relativen Mitralklappeninsuffizienz.

Nach Abschluss dieser Untersuchungen erfolgte die Endomyokardbiopsie der inferioren Wand des linken Ventrikels, wobei aufgrund des möglichen fokalen Charakters der Erkrankung mehrere Biopsien entnommen wurden. Diese wurden umgehend in Formalin 4% fixiert und an das Institut für Pathologie der Philipps- Universität Marburg weitergeleitet, wo die weitere Aufarbeitung erfolgte. Nach Ankunft der Proben wurde diese für weitere 24 Stunden in der 4% Formalin- Lösung fixiert. Anschliessend erfolgte nach Entwässerung und Aufhellung der fixierten Endomyocardbiopsien die Paraffin-Einbettung. Nach Abschluss wurden die Proben mittels des Mikrotoms in Semidünnschnitte mit einer Dicke von 2µm geschnitten. Nach dem Aufziehen auf Objektträger schloss sich nun die Färbung an. Im Institut für Pathologie wurden verschiedene Färbungen angelegt, wie zum Beispiel Hämatoxilin- Eosin, Färbung nach Goldner oder weitere spezifische immunhistochemische Färbungen.

Für jede der verwendeten Proben im Rahmen dieser quantitativen morphologischen Untersuchung wurde jedoch nur die Elastika-van- Gieson Färbung verwendet, da diese eine besonders gute Abgrenzung zwischen fibrotischen Strukturen und dem übrigen Gewebe erlaubt und ebenfalls eine gute Differenzierung zwischen nukleären und extranukleären und zellulären und interstitiellen Bereichen erlaubt. Dazu wird als basischer Farbstoff Eisenhämatoxylin und als saurer Farbstoff Pikrinsäure und Fuchsinäure eingesetzt. Zum Abschluss der Aufarbeitung erfolgt die Entwässerung und

Eindeckung. In der Elastika-van- Gieson Färbung stellen sich muskuläre Anteile und Zytoplasma gelb, kollagene Fasern und Hyalin rot und Zellkerne schwarz dar.

Die 40-fache lichtmikroskopische Untersuchung und Analyse erfolgte ohne Kenntnis der klinischen Daten der Patienten. Die Dokumentation erfolgte nach einem standardisierten Protokoll. Bei dem verwendeten mikroskopischen Analysesystem handelt es sich um das Leica® Quantimed 600 System (Leica® Quantimed optical computer, Wetzlar, Germany). Zur Mikroskopie wurde ein gängiges Durch- und Auflichtmikroskop DMRXE® der Firma Leica® benutzt. Hierbei wurde eine Ölimmersionslösung zur besseren Darstellung der vierzigfachen Vergrößerung benutzt. Mittels eines integrierten Videosystems erfolgte nun eine direkte Übertragung der mikroskopischen Darstellung zum Leica® Quantimed 600 Image Analysis System, welches eine exakte quantitative Messung, wie zum Beispiel den Volumenanteil einer Probe, ermöglicht. Der übertragene Ausschnitt ist in jedem Fall von gleicher Fläche. Die Funktionsweise des Systems beruht auf der Generation eines Signals, welches proportional zur Dichte der mikroskopischen Darstellung ist und mittels einzelner Pixel digitalisiert wird. Die Helligkeit jedes Pixels wird gesammelt und als Wert durch das Quantimed -System erfasst. Es sind sowohl interaktive manuelle Messungen, wie auch standardisierte halbautomatisierte Programmfolgen möglich, welche individuell an Färbungen und Bedürfnisse des Betrachters angepasst werden. Durch ein eigens entwickeltes Programm, das von der Firma Leica® individuell für diese Untersuchung direkt an den verwendeten Proben unter den Vorgaben des Untersuchers entwickelt wurde, ist eine halbautomatische Erkennung der Färbung möglich, welche die spezifische Färbung der Myozyten oder der interstitiellen fibrotischen Areale mittels eines vorgegebenen Farbspektrums erkennt. Die probenabhängige, individuelle Feinabstimmung oder Korrektur erfolgt danach durch den Untersucher. Auf diese Weise erfolgte die quantitative Bestimmung des Anteils der Myozyten und der interstitiellen Fibrose am Gesamtgesichtsfeld. Bei der Auswahl der zu analysierenden Fläche wurde stets auf eine vollständige Abdeckung der Gesamtfläche mit Gewebe geachtet und keine Flächen einbezogen, die endokardiale Biopsieanteile einschlossen. Die Variable des Myozytendurchmessers wurde anhand eines in der Analysesoftware integrierten Programmes manuell in Höhe des Nukleus einer Einzelfaser in Mikrometer bestimmt. Alle Variablen wurden durch den Untersucher insgesamt als Mittelwert aus 9 ± 2 unabhängigen Einzelmessungen der Einzelprobe bestimmt. Die Ergebnisse des Myozytenanteils am Gesamtgehalt und des fibrotischen Anteils am Gesamtgehalt

wurden in Prozent der Gesichtsfeldfläche angegeben. Die Angabe des Myozytendurchmessers erfolgte in Mikrometer. Alle Bestimmungen wurden von einem erfahrenen Untersucher vorgenommen, ohne Kenntnis der klinischen Daten, der hämodynamischen Parameter oder der Nachbetreuungsdaten. Ein Beispiel zur Veranschaulichung dieser Methode zeigt Abbildung 1.

Zur Berechnung der Interobserver- Variabilität wurden 30 der Proben von einem zweiten erfahrenen Untersucher ebenfalls ohne Kenntnis der klinischen Daten nach identischem Protokoll an den gleichen Geräten mit identischen Proben untersucht. Weiterhin wurden 30 der Proben vom Erstuntersucher nach einem Zeitintervall ein zweites Mal analysiert, um eine Einschätzung der Intraobserver Variabilität zu erzielen.

Die Erfassung der klinischen Parameter der biopsierten Patienten erfolgte prospektiv im Marburger Kardiomyopathie Register. Die Analyse der Endomyokardbiopsien zum Zweck dieser Studie wurde aber retrospektiv durchgeführt. Folgende klinische Parameter wurden bei Aufnahme in die Marburger Kardiomyopathie Datenbank erfasst: Alter, Geschlecht, Anamnese und NYHA- Klassifikation der Patienten, aktuelle Symptome und derzeitige Medikation, 12-Kanal-Ruhe- Elektrokardiogramm und Langzeit-Elektrokardiogramm. Elektrokardiographie- Parameter, sowie Ergebnissdaten der Herzkatheter- Untersuchung. Im Februar 2002 wurde mit allen teilnehmenden Patienten schriftlich Kontakt aufgenommen, um mittels eines standardisierten Rücksendebogens Informationen über ihre aktuelle Medikation, und ihre derzeitigen Beschwerden zu bekommen. Im Falle einer nicht erfolgten Rückmeldung durch den Patienten selbst, wurden die notwendigen Informationen im Rahmen eines kürzlich erfolgten stationären oder ambulanten Besuch des Zentrums für Innere Medizin des Klinikums der Philipps- Universität in Marburg, nach telefonischer Rücksprache mit dem Patienten, oder im Falle seines Todes mit seinen Angehörigen analog dem verwendeten, standardisierten Rücksendebogen eingeholt. In Einzelfällen erfolgte auch eine Rücksprache mit den behandelnden allgemeinmedizinischen und internistischen Kollegen der Patienten.

Im Falle des Todes eines Patienten wurden die vorliegenden Informationen verifiziert und falls notwendig präzisiert, um eine genaue Einschätzung der auslösenden Ursache zu ermöglichen. Dies geschah, um eine mögliche kardiale Ursache, insbesondere einen plötzlichen Herztod oder weitere tödliche Begleiterkrankungen genau zu differenzieren. Alle Patienten wurden über einen Zeitraum von 51 ± 22 Monaten verfolgt, beginnend mit dem Zeitpunkt der Herzkatheteruntersuchung mit Gewinnung der untersuchten Herzmuskelbiopsie bei Studieneintritt bis zum Februar 2002. Die Nachbeobachtung

konnte im Februar 2002 bei allen Patienten vervollständigt werden. Bei 8 Patienten, bei denen im Verlauf der Nachbeobachtung eine Herztransplantation durchgeführt wurde, wurde der Nachbeobachtungszeitraum mit dem Datum der Herztransplantation zum Zweck dieser Studie eingestellt.

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden alle Werte als Mittelwerte \pm der Standardabweichung angegeben. Kontinuierliche, normalverteilte Variablen wurden mit dem Students' T-Test verglichen. Kategorische Variablen wurden mittels Fisher- Exact-Test, beziehungsweise mit dem Chi-Quadrat- Test untersucht. Eine statistische Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ angenommen.

1.3. Definition der Kriterien eines schwerwiegendes arrhythmischen Ereignisses

In den Auswertungen der Studie fand im Hinblick auf die Prognose der Patienten eine Einteilung zwischen Patienten mit und ohne schwerwiegenden arrhythmischen Ereignissen und mit und ohne Tod oder Herztransplantation während der Nachbetreuungszeit statt. Schwerwiegende arrhythmische Ereignisse wurden hier definiert als spontan erleidete ventrikuläre Tachycardien, Kammerflimmern oder dem plötzlichen Herztod, der definiert wurde als Tod innerhalb einer Stunde nach Beginn der Symptome bei einem vormals medizinisch stabilen Patienten, einem Tod während des Schlafes oder unbezeugtem Tod.

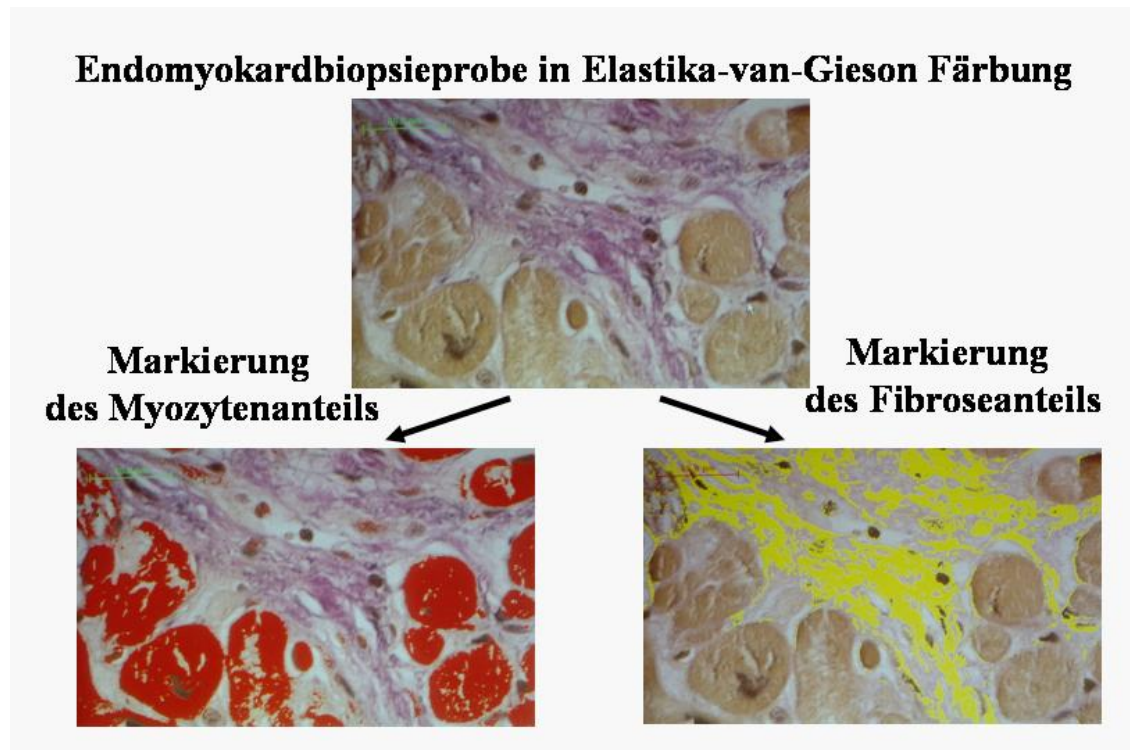


Abbildung 1: Übersicht eines Ausschnittes eines Gesichtsfeldes ohne Markierung der vermessenen Areale und mit Markierung des myotischen, beziehungsweise des fibrotischen Anteils.

3. Ergebnisse

3.1. Klinische Charakteristika der untersuchten Patienten

Die klinischen Charakteristika der 124 untersuchten Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie sind in Tabelle 1 zusammenfassend dargestellt. Das Patientenkollektiv bestand aus 124 Patienten. Das mittlere Alter lag bei 49 ± 13 Jahren mit einer Spannbreite von 18 – 70 Jahren. Die Geschlechtsverteilung betrug 102 männliche zu 22 weiblichen Studienteilnehmern. Die Verteilung der Klassifikation nach der New York Heart Association gliederte sich wie folgt: 20 der 124 Patienten (16%) wurden der NYHA- Klassifikation Grad 1 zugeordnet, was keinerlei Symptomen und einer normalen Belastungsfähigkeit entspricht. 41% (51/124 Patienten) verspürten lediglich Symptome unter mittlerer bis grosser Belastung und 53 von 124 Patienten (43%) gaben Beschwerden bereits bei leichter Belastung an. Eine NYHA Grad IV Symptomatik mit Ruhebeschwerden stellte ein Ausschlusskriterium dar, daher finden sich in diesem Bereich keine Patienten. Die aktuelle Medikation der Patienten verteilte sich wie folgt: ACE- Hemmer waren mit 92% das am häufigsten verwendete Medikament, gefolgt von Digoxin, das in 85% aller Therapien ein Bestandteil war, eng gefolgt von Diuretika mit 82%. Beta- Blocker wurden bei etwa jedem fünften Patienten (19%) verwendet und Calciumantagonisten spielten in nur 9% eine Rolle in der Therapie. Klasse- I oder Klasse- III Antiarrhythmika stellten ein Ausschlusskriterium dar, folglich finden sie sich bei keinem der Patienten. Aus den Daten der Echokardiographie geht hervor, dass die linksventrikuläre Auswurfraction bei 30 ± 10 Prozent lag, das Einschlusskriterium lag bei kleiner oder gleich 45%. Der minimale Wert lag bei 12 % und der maximale Wert bei 45%. Der enddiastolische Durchmesser des linken Ventrikels lag bei Studieneinschluss der Patienten bei 69 ± 8 mm, mit einer Verteilung von 57 - 97 mm. Im 12-Kanal-Oberflächen- EKG findet sich bei 2% der Patienten ein Rechtsschenkelblockbild und bei 25% ein Linksschenkelblockbild. Bei 15% der Patienten findet sich ein Vorhofflimmern. Im 24 Stunden Langzeit- EKG waren hier besonders zwei Parameter von Bedeutung:

1. anhaltende vorzeitige Kammererregung mit mehr als 10 Ereignissen pro Stunde
2. nicht anhaltende ventrikuläre Tachycardien mit mehr als 120 Ereignissen pro Stunde

51% aller Patienten wiesen diese vorzeitige Kammererregung auf und 35 % aller Patienten zeigten die ventrikulären Tachycardien.

Tabelle 1: Klinische Charakteristika der 124 Patienten mit DCM

<u>Gesamtzahl</u>	124
<u>Alter (Jahre)</u>	49 ± 13
Spannbreite	18 – 70
<u>Geschlecht</u>	
männlich	102 (82%)
weiblich	22 (18%)
<u>NYHA Klassifikation</u>	
Grad I	20 (16%)
Grad II	51 (41%)
Grad III	53 (43%)
Grad IV	0 (0%)
<u>Medikation</u>	
Digoxin	106 (85%)
Diuretika	102 (82%)
ACE- Hemmer	114 (92%)
Calciumantagonisten	11 (9%)
Beta- Blocker	24 (19%)
Klasse- I oder -III Antiarrhythmika	0 (0%)
<u>Echokardiographie</u>	
Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (%)	30 ± 10
(Spannbreite) (%)	12 – 45
Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (mm)	69 ± 8
(Spannbreite) (mm)	57 – 97
<u>Elektrokardiogramm</u>	
Rechtsschenkelblock	2 (2%)
Linksschenkelblock	31 (25%)
Vorhofflimmern	18 (15%)
<u>Langzeit- EKG (24h)</u>	
Ventrikuläre Extrasystolen	63 (51%)
Nichtanhaltende ventrikuläre Tachycardie	44 (35%)

3.1. Zusammenhang zwischen der morphometrischen Biopsieanalyse und arrhythmischen Ereignissen

Bei insgesamt 24 von 124 Patienten (19%) wurde im Verlauf von 51 ± 22 Monaten nach Durchführung der Endomyokardbiopsie ein lebensbedrohliches arrhythmisches Ereignis beobachtet. Dieses lebensbedrohliche arrhythmische Ereignis bestand bei 8 dieser 24 Patienten aus einer anhaltenden schnellen Kammertachycardie oder Kammerflimmern und bei den verbleibenden 16 Patienten aus einem plötzlichen Herztod. Abbildung 2 zeigt das Beispiel eines EKGs mit einer spontanen schnellen Kammertachycardie bei einem Patienten mit DCM, die nach etwa einer Minute durch eine Kardioversion mit 200 Joule terminiert wurde. Der Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der morphometrischen Endomyokardbiopsieanalyse und dem späteren Auftreten arrhythmischer Ereignisse ist in Tabelle 2 dargestellt. Es fand sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Fibrosegehaltes, des Myozytenanteils und des Myozytendurchmessers bei Patienten mit arrhythmischem Ereignis im Vergleich zu Patienten ohne arrhythmisches Ereignis. Die Abbildung 4 stellt dies noch einmal graphisch dar.

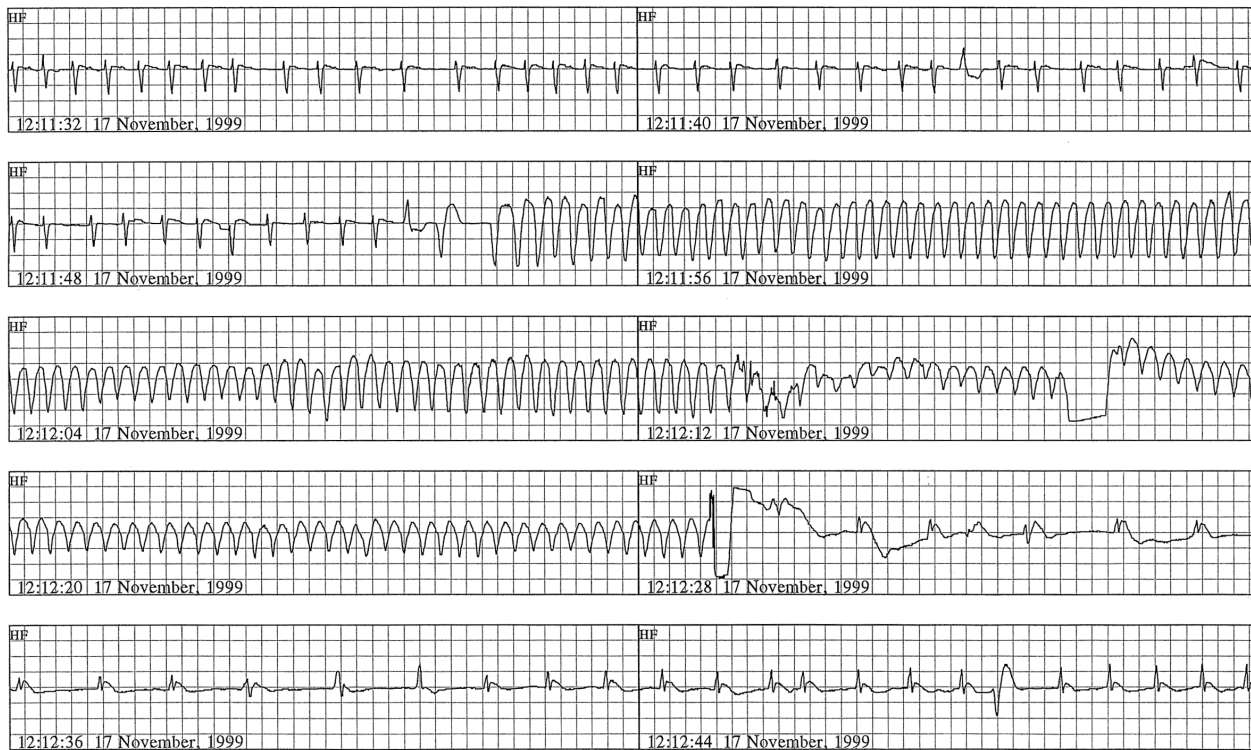


Abbildung 2: Beispiel eines EKGs mit einer spontanen schnellen Kammertachycardie bei einem Patienten mit DCM, die nach etwa einer Minute durch eine Kardioversion mit 200 Joules terminiert wurde.

Tabelle 2: Vergleich der Patienten mit und ohne arrhythmische Ereignisse

	<u>Arrhythmisches Ereignis</u>	<u>Kein Arrhythmisches Ereignis</u>
<u>Patienten</u>	24 (19%)	100 (81%)
<u>Geschlecht</u>		
Männlich	20 (83%)	84 (81%)
Weiblich	4 (17%)	16 (19%)
<u>Alter</u>		
Jahre	51 ± 10	49 ± 13
<u>NYHA Klassifikation</u>		
Grad I	2 (8%)	18 (18%)
Grad II	7 (29%)	44 (44%)
Grad III	15 (63%)	38* (38%)
<u>Medikation</u>		
<u>zu Studienbeginn</u>		
Digitalis	22 (92%)	84 (84%)
Diuretika	22 (92%)	92 (92%)
ACE- Hemmer	23 (96%)	79 (79%)
Calciumantagonisten	7 (29%)	17 (17%)
Beta- Blocker	1 (4%)	10 (10%)
<u>Echokardiographie zu Studienbeginn</u>		
LV Ejektionsfraktion (%)	25 ± 10	32 ± 10 *
LV enddiastolischer Diameter (mm)	72 ± 8	68 ± 8
<u>EKG und Langzeit EKG</u>		
<u>(24 Stunden)</u>		
Linksschenkelblock	6 (25%)	25 (25%)
Vorhofflimmern	4 (17%)	14 (14%)
ventrikuläre Tachycardie	13 (54%)	31* (31%)
<u>Endomyokardbiopsie</u>		
Interstitielle Fibrose (%)	8,7 ± 4,0	8,7 ± 5,3
Myozytenanteil (%)	72,5 ± 11,3	73,4 ± 8,0
Myozytendurchmesser (µm)	20,5 ± 2,7	21,0 ± 3,4

* p<0,05 für Patienten mit gegenüber ohne transplantatfreies Überleben

Fibrosegehalt (%)

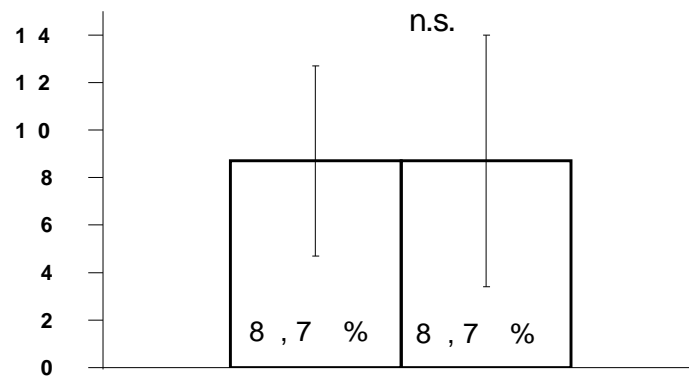
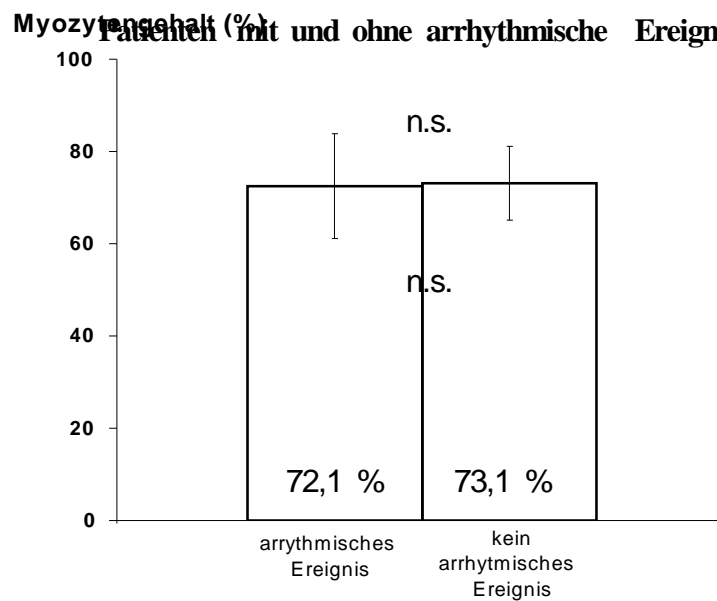
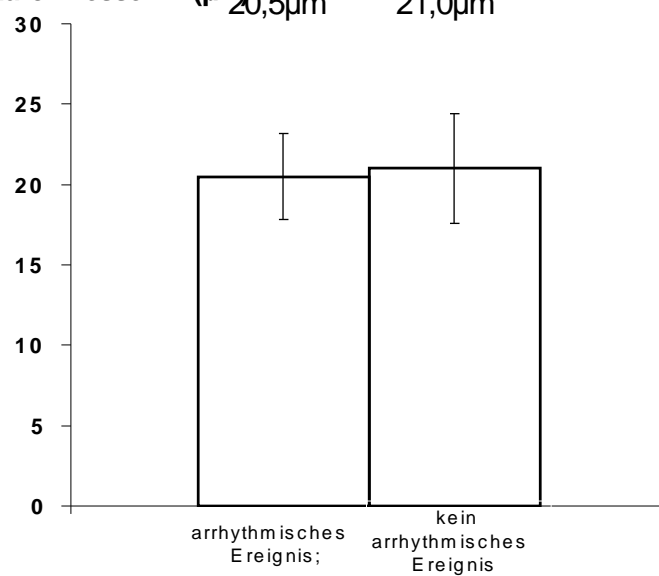


Abbildung 3: Vergleich der Ergebnisse der morphometrischen Analyse bei

Patienten mit und ohne arrhythmische Ereignisse



73,1 %
Myozytendurchmesser (µm)



3.2. Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der morphometrischen Biopsieanalyse und dem transplantatfreiem Überleben

Aus der Gesamtmenge der 124 Patienten kam es in der Nachbeobachtungszeit von 51 ± 22 Monaten bei 24 Patienten zu schwerwiegenden arrhythmischen Ereignissen, dies entspricht einem Anteil von 19%, darunter fielen bei 8 Patienten (6%) anhaltende ventrikuläre Tachykardien oder Kammerflimmern und ein plötzlicher Herztod bei 16 Patienten (13%).

Insgesamt verstarben 33 Patienten (27%) während der Nachbeobachtungszeit. 6 Patienten (5%) unterzogen sich erfolgreich einer Herztransplantation. Die Todesursache konnte gemäss der Definition bei 16 Patienten (13%) als plötzlicher Herztod charakterisiert werden. Ein Tod infolge einer fortschreitenden Herzinsuffizienz trat bei 14 Patienten auf (11%). 3 Patienten (2%) starben durch eine Sepsis, ein Bronchialkarzinom und ein Prostatakarzinom. Einen Überblick hierzu geben Tabelle 3 und die Abbildung 4.

Tabelle 3: Vergleich der Patienten mit und ohne transplantationsfreiem Überleben während des Follow up

	<u>Tod oder</u> <u>Herztrans- plan</u> <u>tation</u>	<u>Kein Tod oder</u> <u>Herztrans- plant</u> <u>ation</u>
<u>Patienten</u>	39 (31%)	85 (69%)
<u>Geschlecht</u>		
Männlich	33 (85%)	69 (81%)
Weiblich	6 (15%)	16 (19%)
<u>Alter</u>		
Jahre	49 ± 12	49 ± 13
<u>NYHA Klassifikation</u>		
Grad I	4 (10%)	16 (19%)
+Grad II	9 (23%)	42 (49%)
Grad III	26 (67%)	27* (32%)
<u>Medikation</u> <u>zu Studienbeginn</u>		
Digitalis	34 (87%)	72 (85%)
Diuretika	37 (95%)	77 (91%)
ACE- Hemmer	37 (95%)	77 (91%)
Calciumantagonisten	1 (3%)	10 (12%)
Beta- Blocker	8 (13%)	16 (19%)
<u>Echokardiographie zu Studienbeginn</u>		
LV Ejektionsfraktion (%)	25 ± 8	33 ± 10*
LV enddiastolischer Diameter (mm)	73 ± 8	67 ± 7 *
<u>EKG und Langzeit EKG</u> <u>(24 Stunden)</u>		
Linksschenkelblock	12 (31%)	19 (22%)
Vorhofflimmern	5 (13%)	13 (15%)
ventrikuläre Tachycardie	22 (56%)	22* (26%)
<u>Endomyokardbiopsie</u>		
Interstitielle Fibrose (%)	8,7 ± 4,5	8,8 ± 5,3
Myofibrillenanteil (%)	73,5 ± 8,8	73,1 ± 8,6
Myozytendurchmesser (µm)	20,3 ± 3,8	21,0 ± 3,0

* p < 0,05 für Patienten mit gegenüber ohne transplantatfreies Überleben

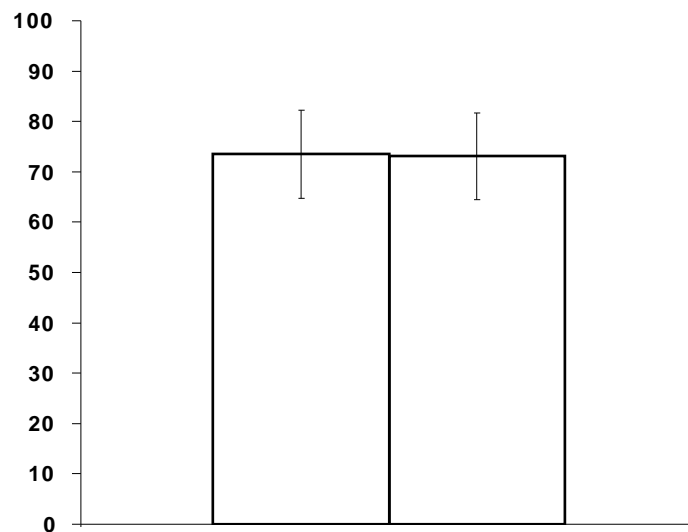
Tod /
Herztransplan-
tation

kein Tod /
Herztransplan-
tation

Abbildung 4: Vergleich der morphometrischen Analyse bei Patienten mit und ohne Tod oder Herztransplantation

4. Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wurde die prognostische Bedeutung einer quantitativen morphometrischen Analyse von Endomyokardbiopsien bei 124 Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie untersucht. Als Hauptergebnis wurde gefunden, dass



weder der Fibrosegehalt, noch der Myozytenanteil oder der Myozytendurchmesser geeignet waren, das Auftreten lebensbedrohlicher arrhythmischer Ereignisse oder die Dauer des transplantatfreien Überlebens im weiteren Verlauf vorauszusagen.

3.1 Vergleich mit bereits publizierten Untersuchungen zum prognostischen Stellenwert von Endomyocardiopsien

In mehreren früheren vorausgegangenen Studien sind verschiedenste Techniken angewendet wurden, um zu zeigen, dass bei Patienten mit DCM morphometrische Veränderungen zu finden sind (22 - 33). Einigen Autoren gelang es einen Zusammenhang zwischen morphometrischen Veränderungen und der myokardialen

Funktion nachzuweisen (34 - 36). Auch liegen bereits Erfahrungen anderer Autoren mit quantitativen und qualitativen Analysen von links und/oder rechtsventrikulären Endomyokardbiopsieproben vor (19, 20; 37 - 45). Einen Überblick darüber gibt Tabelle 4. Nur in einzelnen Untersuchungen wurden Nachbeobachtungsergebnisse einbezogen, um die prognostische Signifikanz der morphometrischen endomyokardialen Biopsieergebnisse zu überprüfen (20, 39, 40, 44, 45). Zusätzlich ist diese Studie die Erste, welche das Verhältnis zwischen endomyokardialen Biopsieergebnissen und schwerwiegenden arrhythmischen Ereignissen in der Nachbetreuungszeit analysiert. Ähnlich zu den Ergebnissen der Studien von Baandrup et al. (19, 20) und Schwarz et al. (39) konnte auch in dieser Untersuchung kein Hinweis für einen Zusammenhang zwischen den morphometrischen Biopsieergebnissen und einer nachfolgenden Mortalität bei Patienten mit DCM beschrieben werden. In einer anderen Studie von Kawai (45) konnte bei 88 Patienten mit DCM kein Zusammenhang reversibler Rückbildungen nach zwei Jahren intensiver Therapie und dem Gehalt der Fibrose in endomyokardialen Biopsien gezeigt werden. Im Gegensatz zu diesen drei Studien (20, 39, 44), gelang es Figulla (40) zu beobachten, dass ein reduzierter Myofibrillenanteil von kleiner 60% bei 38 untersuchten Patienten mit DCM eine signifikante prognostische Relevanz für die hämodynamische Verschlechterung oder den Tod besitzt. Die Sensitivität lag bei 90% und die Spezifität bei 93%. Weitere morphometrische Ergebnisse, die den Myozytendurchmesser oder den Gehalt an interstitiellem fibrotischem Gewebe einbezogen, waren in dieser Studie von Figulla nicht in der Lage, signifikante prognostische Relevanzen aufzuzeigen. Zuletzt zeigte Yamada (45) in einer Nachbetreuung von 30 Patienten mit DCM, dass im Rahmen einer Langzeit Beta-Blocker Substitution eine hämodynamische Verbesserung eher assoziiert ist mit einem geringen Gehalt in interstitieller Fibrose in der Endomyokardbiopsie der betroffenen Patienten.

Tabelle 4: Übersicht über die wichtigsten bisher durchgeführten

Autor	Patienten (n)	Fibrose- gehalt (%)	Myozyten- gehalt (%)	Myozyten- Durch- mess- er (μm)
Nakayama et al. ⁴¹ (1987)	24	n.v	n.v	n.v
Schwarz et al. ³⁷ (1983)	47	10,7 \pm 9,7	55,9 \pm 4,7	24,5 \pm 4
Bortone et al. ⁴³ (1989)	12	19 / 43	n.v	n.v
Schwarz et al. ³⁹ (1984)	68	12,4 \pm 13,4	54,5 \pm 4,8	25 \pm 4,0
Figulla et al. ⁴⁰ (1985)	56	17,2 - 20,0	46,6 - 64,2	14 - 25,6
Unverferth et al. ³⁸ (1983)	99	9,8 \pm 7,3	n.v	20 \pm 4,4
Baandrup, Olsen et al. ¹⁹ (1981)	201	0,9 - 5,0	n.v	10,6 - 24,6
Baandrup, Olsen et al. ²⁰ (1981)	201	1,3 - 1,6	n.v	15,7 - 18,4
Kawai et al. ⁴⁵ (1999)	78	n.v	n.v	20
Archie Lo et al. ⁴² (1989)	25	n.v	n.v	24 \pm 2
Yamada et al. ⁴⁴ (1993)	30	7,6 \pm 5,7	n.v	n.v
Vorliegende Studie Grimm et al. ⁵⁹ (2003)	124	8,7 \pm 5,0	73,2 \pm 8,7	20,8 \pm 3,2

Abkürzungen : n.v. : nicht vorhanden

3.2. Diskussion der morphometrischen Ergebnisse

Das Hauptergebnis der hier durchgeführten Studie war die fehlende Korrelation zwischen dem Ausmass der interstitiellen Fibrose, dem Myozytenanteil, sowie dem Myozytendurchmesser mit schwerwiegenden arrhythmischen Ereignissen und dem transplantatfreien Überleben während der Nachbeobachtungsphase. Als Ursache für die fehlende Korrelation der morphometrischen Ergebnisse mit dem Auftreten arrhythmischer Ereignisse und dem transplantatfreien Überleben kommen mehrere Faktoren in Frage. Zunächst besteht bei der Analyse von Endomyokardbiopsieproben das Problem des Sampling Errors. Obgleich von jedem Patienten mehrere Endomyokardbiopsien entnommen wurden, stand für die vorliegende retrospektive morphometrische Analyse der Endomyokardbiopsien lediglich eine einzige Probe der Endomyokardbiopsie zur Verfügung. Der Fibrosegehalt in dieser kleinen Biopsie repräsentiert nicht notwendigerweise den Fibrosegehalt im gesamten Myokard. Das Selbe gilt für den Myozytenanteil, sowie für die Myozytendurchmesser. Ein weiteres Problem bei der morphometrischen Analyse von Endomyokardbiopsieproben ist sowohl die Interobserver- Variabilität, als auch die Intraobserver- Variabilität. Analog zu unseren Ergebnissen haben mehrere andere Untersucher, insbesondere für die Bestimmung des Fibrosegehaltes in Endomyokardbiopsien gefunden (19, 20, 28, 38, 39, 46 - 48). Mehrere Faktoren können für diesen Umstand ursächlich sein, welche auch das Grenzen dieses Verfahrens aufzeigen. Zunächst obliegt die Auswahl der zu untersuchenden Bereiche der Gesamtprobe dem Untersucher. Durch die Elastika-van- Gieson Färbung (49 - 51) ist zwar eine deutliche Hervorhebung der bindegewebigen Anteile einer Probe möglich. Die Differenzierung zwischen myokardialen und fibrotischem Anteil ist somit gegeben, jedoch lässt sie keine Differenzierung zwischen den einzelnen kollagenen Untergruppen zu. Das heisst, die Abgrenzung zwischen endokardialem Bindegewebe und interstitiellen fibrotischen Anteilen obliegt ebenfalls dem Untersucher. Durch die standardisierte Programmfolge des Analysesystems ist zwar eine grundsätzliche Markierung eines festgelegten typischen Farbtones gegeben, es kann jedoch keine Differenzierung durch das Programm im Bezug auf die individuellen Varianzen der einzelnen Proben vorgenommen werden, welche zum Beispiel durch die Fixierung, die Färbung oder die Schnittdicke entstehen. Eine weitere Quelle der Variabilität ergibt sich weiterhin aus dem relativ geringen prozentualen Gesamtgehalt der interstitiellen Fibrose

an der Gesamtfläche, was durch geringe absolute Abweichungen zu hohen prozentualen Abweichungen führt. Für die Variabilität des Myozytengehalt kommen deutlich weniger der oben genannten möglichen Quellen in Frage, daher ist diese geringer. Die Ergebnisse der quantitativen Messungen des Myozytengehaltes sind durchaus vergleichbar mit den Ergebnissen der bereits durchgeführten Untersuchungen anderer Autoren (19, 20, 37 - 45). Lediglich Figulla (40) konnte eine hämodynamische oder prognostische Signifikanz bei einem Volumengehalt von weniger als 60% nachweisen. Der Anteil der Myozyten am Gesamtgehalt der Biopsieproben der hier beobachteten Patienten, welche entweder transplantiert wurden, starben, oder die schwerwiegende arrhythmische Ereignisse erlitten, lag bei $73 \pm 9\%$, beziehungsweise bei $73 \pm 11\%$. In dieser Untersuchung lag Gehalt der Myozyten an der Gesamtfläche deutlich höher, so dass diese Ergebnisse nicht bestätigt werden können. Von Figulla. (40) wurde allerdings nur die semiquantitative Pointing- Count Methode (19, 52, 53) benutzt und nicht, wie in der vorliegenden Untersuchung, eine vollständig quantitative Methode. Der Myozytendurchmesser ergab wie die anderen morphometrischen Untersuchungen sehr ähnliche Ergebnisse für beide Vergleichsgruppen. Dies bestätigt das Ergebnis der anderen morphometrischen Ergebnisse, da sich auch in dieser Analyse keine signifikante prognostische Bedeutung, weder für ein transplantatfreies Überleben, noch für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines arrhythmischen Ereignisses ergibt. Im Gegensatz zu der Analyse der quantitativen morphometrischen endomyokardialen Biopsien zeigte sich jedoch, dass der Anteil der linksventrikulären Dysfunktion, hier gemessen an der linksventrikulären Auswurfraction und den aufgetretenen ventrikulären Tachycardien, mit einer höheren Inzidenz für das Auftreten von schwerwiegenden arrhythmischen Ereignissen oder einer erniedrigten Inzidenz für ein transplantatfreies Überleben assoziiert ist (4). Ähnlich wie auch in vorausgegangenen Studien (19, 20, 39, 44, 45) war diese Untersuchung mit dem Probenfehler behaftet, der als Limitation aller Untersuchung dieser Art vorhanden ist (19, 20, 28, 38, 39, 46 - 48). Zusätzlich wurde nur eine linksventrikuläre Probe untersucht, die von der inferioren Wand entnommen wurde. Dies hat aufgrund des möglichen fokalen Charakters der Erkrankung eine mögliche Bedeutung im Hinblick auf die Ergebnisse. Diese Studie ist jedoch die Erste, welche eine vollständig quantitative Messung anhand eines renommierten Bildanalyseprogrammes (56 - 57) vorgenommen hat. Bewusst wurde hier auf die Pointing- Count Methode verzichtet, welche mit einer semiquantitativen Auszählung in einer Zählkammer arbeitet. Diese Methode lässt im Vergleich zum

Vorgehen dieser Untersuchung keine rein quantitative Bestimmung der erhobenen Parameter zu.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde keine Kontrollgruppe gesunder Patienten einbezogen, so dass hier kein Vergleich mit entsprechenden morphometrischen Daten vorgenommen werden kann. Die in der Vergangenheit erhobenen Normalwerte für den Durchmesser der Myozyten gehen zum Teil auf sehr weit zurückliegende Untersuchung zurück, haben jedoch noch heute Bestand. Einen Überblick gibt Tabelle 5. Die in dieser Arbeit erhobenen Werte liegen deutlich über diesen Normwerten, so dass die bekannte Tatsache einer Hypertrophie der Herzmuskelzellen bestätigt werden kann.

Die Fibrosierung des Gewebes ist Teil der pathologischen Veränderung, so dass es in diesem Sinne keine Normwerte Gesunder gibt. In der Untersuchung von Baandrup et al von 19981 (19) wurde daher für die Population der gesunden Personen ein durchschnittlicher Volumenanteil von 0,8% im rechten Ventrikel und von 1,1% im linken Ventrikel erhoben. Diese Werte sind vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Autoren. (60 - 61). Hieraus erschließt sich die Tatsache, dass der überwiegende Teil des Gewebes Herzmuskelzellen enthält. Der Anteil des Interstitiums liegt bei etwa 17,2% in der oben erwähnten Untersuchung (19). Im Vergleich dieser Normwerte muss bedacht werden, dass hier verschiedene Techniken der Probengewinnung (Autopsie/ Biopsie), verschiedene Fixierungs- und auch Färbetechniken vorliegen, so dass ein Vergleich nur bedingt möglich ist.

Als Option für zukünftige Studien sollten Färbungen Verwendung finden, welche eine genauere Differenzierung der einzelnen Anteile, zum Beispiel der einzelnen Kollagenfraktionen, ermöglichen. Im Hinblick auf die Zahl der bisher durchgeführten Untersuchungen (19, 20, 37 - 45) und den nur in Einzelfällen gewonnenen, prognostisch signifikanten Ergebnissen, erscheint es jedoch fraglich, ob eine prognostische Signifikanz auch bei verbesserten methodischem Vorgehen nachgewiesen werden kann. Bei erneuten Studien mit ähnlichen Fragestellungen sollte ebenfalls eine Kontrollgruppe gesunder Patienten einbezogen werden. Eine weitere Limitation der vorliegenden Studie ist die geringe Verwendung von Beta-Blockern als Teil der medikamentösen Therapie, welche vor allem mit dem Einschlusszeitraum der Patienten zusammenhängt. Im Zeitraum zwischen 1992 und 1997 galt diese Therapie noch nicht als etablierte Standardtherapie.

Tabelle 5: Durchmesser (µm) der normalen Herzmuskulatur des Erwachsenen in vorausgegangenen Studien

Autor	Anzahl	Durchmesser im rechten Ventrikel (µm)	Durchmesser im linken Ventrikel (µm)	Durchmesser beider Ventrikel (µm)
Goldenberg et al ⁶² (1886)	3	12,7	12,4	
Karsner et al ⁶³ (1925)	1		17,6	
Harrison et al ⁶⁴ (1932)	12		16,2 *	
Roberts et al ⁶⁵ (1941)	10		14,0	
Roberts / Wearn ⁶⁶ (1941)	26			13,9
Wearn (1941) ⁶⁷	36			13,9
Ashley (1945) ⁶⁸	13	16,2 *	20,1 *	
Lowe / Bate ⁶⁹ (1948)	5		13,1 *	
Ishikawa et al ⁷⁰ (1972)	25	9,4 *	11,4 *	
Truex (1972) ⁷¹	5		15,8 *	
Davies et al ⁷² (1977)	48		15,9	
Fuster et al ⁷³ (1977)	22		5,8	
Baandrup et al ¹⁹ (1981)	19 53/51	11,6 * 11,9 *	 14,4 *	

* Messung des Durchmessers in Höhe des Nukleus

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurde die prognostische Bedeutung einer quantitativen morphometrischen Analyse von Endomyocardiopsien bei 124 Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie untersucht, da zum jetzigen Zeitpunkt kontroverse Ansichten über die prognostische Signifikanz von morphometrischen endomyokardialen Biopsieergebnissen bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie bestehen.

Bei 124 Patienten wurde eine quantitative lichtmikroskopische Analyse von Endomyocardiopsieproben vorgenommen, die in einer Herzkatheteruntersuchung linksventrikulär entnommen wurden. Bei der Färbetechnik der Proben handelte es sich um die Elastika-van-Gieson Färbung. Die quantitative Auswertung wurde digital mittels eines Bildanalyse-Systems vorgenommen. Es wurden der Anteil des interstitiellen fibrotischen Gewebes, der Anteil der Myozyten am Gesamtgehalt der analysierten Probe und der myozytäre Durchmesser bestimmt.

Zur Bestimmung der prognostischen Signifikanz wurden die klinischen Daten der Patienten bei Studieneintritt und die Daten nach einer Nachbetreuungszeit von 51 ± 22 Monaten mit den morphometrischen Daten korreliert. Während der Nachbetreuungszeit wurden schwerwiegende arrhythmische Ereignisse, die als anhaltende ventrikuläre Tachycardien, Kammerflimmern oder plötzlichem Herztod definiert wurden, bei 24 Patienten (19 Prozent) beobachtet. Ein Tod des Patienten aus jedem Grund oder eine Herztransplantation wurde bei 39 Patienten (31%) beobachtet.

Als Hauptergebnis wurde gefunden, dass weder der Fibrosegehalt, noch der Myozytenanteil oder der Myozytendurchmesser einer Endomyocardiopsie geeignet waren, das Auftreten lebensbedrohlicher arrhythmischer Ereignisse oder die Dauer des transplantatfreien Überlebens im weiteren Verlauf vorauszusagen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sprechen dafür, dass die quantitative morphometrische Analyse von Endomyocardiopsieproben nicht hilfreich ist, um schwerwiegende arrhythmische Ereignisse oder das transplantatfreie Überleben von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie vorherzusagen.

6. Literaturverzeichnis

1. Grimm W, Hoffmann J, Müller HH, Maisch B. Implantable Defibrillator Event Rates in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy, Nonsustained Ventricular Tachycardia on Holter and a Left Ventricular Ejection Fraction Below 30%. *Am Coll Cardiol.* 2002; 39: 780-7.
2. The Antiarrhythmics Versus Implantable Defibrillators (AVID) Investigators. A comparison of antiarrhythmic- drug therapy with implantable defibrillators in patients resuscitated from near-fatal ventricular arrhythmias. *N Engl J Med.* 337: 1576-83.
3. Gregoratos G, Cheitlin MD, Conill A, Epstein AE, Fellows C, Ferguson TB Jr, Freedman RA, Hlatky MA, Naccarelli GV, Saksena S, Schlant RC, Silka MJ. ACC/AHA Guidelines for Implantation of Cardiac Pacemakers and Antiarrhythmia Devices: Executive Summary-- a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Pacemaker Implantation). *Circulation.* 1998 Apr 7;97(13):1325-35.
4. Johnson RA, Palacios I. Dilated cardiomyopathy of the adult (part I). *N Engl J Med.* 1982; 307: 1051
5. Field BJ, Baxley WA, Russell RO Jr, Hood WP Jr, Holt JH, Dowling JT, Rackley CE. Left ventricular function and hypertrophy in cardiomyopathy with depressed ejection fraction. *Circulation.* 1973; 47: 1022
6. Grimm W, Hoffmann J, Menz V, Luck K, Maisch B. Programmed ventricular stimulation for arrhythmia risk prediction in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and nonsustained ventricular tachycardia. *Am Coll Cardiol.* 1998 Sep;32(3):739-45.

7. Turitto G, Ahuja RK, Caref EB, el-Sherif N. Risk stratification for arrhythmic events in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy and nonsustained ventricular tachycardia: role of programmed ventricular stimulation and the signal-averaged electrocardiogram. *Am Coll Cardiol.* 1994 Nov 15;24(6):1523-8.
8. Knight BP, Goyal R, Pelosi F, Flemming M, Horwood L, Morady F, Strickberger SA. Outcome of patients with nonischemic dilated cardiomyopathy and unexplained syncope treated with an implantable defibrillator. *J Am Coll Cardiol.* 1999 Jun;33(7):1964-70.
9. Fonarow GC, Feliciano Z, Boyle NG, Knight L, Woo MA, Moriguchi JD, Laks H, Wiener I. Improved survival in patients with nonischemic advanced heart failure and syncope treated with an implantable cardioverter- defibrillator. *Am J Cardiol.* 2000 Apr 15;85(8):981-5.
10. Grimm W, Glaveris C, Hoffmann J, Menz V, Muller HH, Hufnagel G, Maisch B. Arrhythmia risk stratification in idiopathic dilated cardiomyopathy based on echocardiography and 12-lead, signal- averaged, and 24-hour holter electrocardiography. *Am Heart J.* 2000 Jul;140(1):43-51.
11. De Maria R, Gavazzi A, Caroli A, Ometto R, Biagini A, Camerini F. Ventricular arrhythmias in dilated cardiomyopathy as an independent prognostic hallmark. Italian Multicenter Cardiomyopathy Study (SPIC) Group. *Am J Cardiol.* 1992 Jun 1;69(17):1451-7.
12. Doval HC, Nul DR, Grancelli HO, Varini SD, Soifer S, Corrado G, Dubner S, Scapin O, Perrone SV. Nonsustained ventricular tachycardia in severe heart failure. Independent marker of increased mortality due to sudden death. GESICA-GEMA Investigators. *Circulation.* 1996 Dec 15;94(12):3198-203.

13. Levine JH, Waller T, Hoch D, Greenberg S, Goldberger J, Kadish A. Implantable cardioverter defibrillator: use in patients with no symptoms and at high risk. *Am Heart J.* 1996 Jan;131(1):59-65.
14. Kadish A, Quigg R, Schaechter A, Anderson KP, Estes M, Levine J. Defibrillators in nonischemic cardiomyopathy treatment evaluation. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2000 Mar;23(3):338-43.
15. Sakakibara S, Konno S. Endomyocardial biopsy. *Jpn Heart J.* 1962; 3:537-54.
16. Sekiguchi M, Hiroe M, Morimoto S, Kawagoe Y. The contribution of endomyocardial biopsy to the diagnosis and assessment of cardiomyopathies. In Hayase S, Murao S, eds. *Cardiology, Proceedings of the 8th World Congress of Cardiology*, Tokyo, 17-23 September, 1978. *Experta Medica*, Amsterdam, Oxford, Princeton, 1979, 583-90.
17. MacKay EH, Littler WA, Sleight P. Critical assessment of diagnostic value of endomyocardial biopsy. Assessment of cardiac biopsy. *Br Heart J.* 1978 Jan;40(1):69-78.
18. Kawai C, Matsumori A, Kawamura K. Myocardial biopsy. *Annu Rev Med.* 1980;31:139-57.
19. Baandrup U, Olsen EG. Critical analysis of endomyocardial biopsies from patients suspected of having cardiomyopathy. I: Morphological and morphometric aspects. *Br Heart J.* 1981 May;45(5):475-86.
20. Baandrup U, Florio RA, Rehahn M, Richardson PJ, Olsen EG. Critical analysis of endomyocardial biopsies from patients suspected of having cardiomyopathy. II: Comparison of histology and clinical/haemodynamic information. *Br Heart J.* 1981 May;45(5):487-93.

21. Grimm W, Hoffmann J, Menz V, Müller HH, Maisch B. Prediction of major arrhythmic events and sudden cardiac death in dilated cardiomyopathy. The Marburg Cardiomyopathy Study design and description of baseline clinical characteristics. *Herz*. 2000 May;25(3):189-99.
22. Mason JW, O'Connell JB. Clinical merit of endomyocardial biopsy. *Circulation*. 1989 May;79(5):971-9.
23. Somers K, Hutt MS, Patel AK, D'Arbela PG. Endomyocardial biopsy in diagnosis of cardiomyopathies. *Br Heart J*. 1971 Nov;33(6):822-32.
24. Olsen EG. Diagnostic value of the endomyocardial biopome. *Lancet*. 1974 Apr;1(7859):658-60.
25. Mason JW, Billingham ME, Rider AK, Harrison DC. Myocardial biopsy. In: Willerson JT, Sanders CA, eds. *The science and practise of clinical medicine*. Vol. III: Clinical cardiology. New York: Grune & Stratton, 1977: 606-13.
26. Olsen EGJ, Baandrup U. Histopathological aspects of cardiomyopathy and the role of endomyocardial biopsies. In Sekiguchi M, Olsen EGJ, eds. *Cardiomyopathy. Clinical, Pathological and theoretical aspects*. University of Tokyo Press, Tokyo, University Park Press, Baltimore, 1980, 89-106.
27. Davis MJ, Brooksby IAB, Jenkins BS, et al. Left ventricular endomyocardial biopsy. II: The value of light microscopy. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1977; 3: 123-30.
28. Kunkel B, Lapp H, Kober G, Kaltenbach M. Correlations between clinical and morphologic findings and natural history in congestive cardiomyopathy. In: Kaltenbach M, Loogen F, Olsen EGJ, eds. *Cardiomyopathy and myocardial biopsy*. Berlin, Heidelberg, and New York: Springer Verlag. 1978; 271-83.

29. Noda S. Histopathology of endomyocardial biopsies from patients with idiopathic cardiomyopathy; quantitative evaluation based on multivariate statistical analysis. *Jpn Circ J.* 1980 Feb;44(2):95-116.
30. Das JP, Rath B, Das S, Sarangi A. Study of endomyocardial biopsies in cardiomyopathy. *Indian Heart J.* 1981 Jan-Feb;33(1):18-26.
31. Roberts WC, Ferrans VJ. Pathologic anatomy of the cardiomyopathies. Idiopathic dilated and hypertrophic types, infiltrative types, and endomyocardial disease with and without eosinophilia. *Hum Pathol.* 1975 May;6(3):287-342.
32. Sekiguchi M, Konno S. Diagnosis and classification of primary myocardial disease with the aid of endomyocardial biopsy. *Jpn Circ J.* 1971 Jul;35(7):737-54.
33. Dick MR, Unverferth DV, Baba N. The pattern of myocardial degeneration in nonischemic congestive cardiomyopathy. *Hum Pathol.* 1982 Aug;13(8):740-4.
34. Wit AL, Rosen MR. Cellular electrophysiology of cardiac arrhythmias. Part I. Arrhythmias caused by abnormal impulse generation. *Mod Concepts Cardiovasc Dis.* 1981 Jan;50(1):1-6.
35. Wit AL, Rosen MR. Cellular electrophysiology of cardiac arrhythmias. Part II. Arrhythmias caused by abnormal impulse conduction. *Mod Concepts Cardiovasc Dis.* 1981 Feb;50(2):7-11.
36. Mary-Rabine L, Albert A, Pham TD, Hordof A, Fenoglio JJ Jr, Malm JR, Rosen MR. The relationship of human atrial cellular electrophysiology to clinical function and ultrastructure. *Circ Res.* 1983 Feb;52(2):188-99.
37. Schwarz F, Mall G, Zebe H, Blickle J, Derks H, Manthey J, Kubler W. Quantitative morphologic findings of the myocardium in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 1983 Feb;51(3):501-6.

38. Unverferth DV, Feters JK, Unverferth BJ, Leier CV, Magorien RD, Arn AR, Baker PB. Human myocardial histologic characteristics in congestive heart failure. *Circulation*. 1983 Dec;68(6):1194-200.
39. Schwarz F, Mall G, Zebe H, Schmitzer E, Manthey J, Scheurlen H, Kubler W. Determinants of survival in patients with congestive cardiomyopathy: quantitative morphologic findings and left ventricular hemodynamics. *Circulation*. 1984 Dec;70(6):923-8.
40. Figulla HR, Rahlf G, Nieger M, Luig H, Kreuzer H. Spontaneous hemodynamic improvement or stabilization and associated biopsy findings in patients with congestive cardiomyopathy. *Circulation*. 1985 Jun;71(6):1095-104.
41. Nakayama Y, Shimizu G, Hirota Y, Saito T, Kino M, Kitaura Y, Kawamura K. Functional and histopathologic correlation in patients with dilated cardiomyopathy: an integrated evaluation by multivariate analysis. *J Am Coll Cardiol*. 1987 Jul;10(1):186-92.
42. Lo YS, Billingham M, Rowan RA, Lee HC, Liem LB, Swerdlow CD. Histopathologic and electrophysiologic correlations in idiopathic dilated cardiomyopathy and sustained ventricular tachyarrhythmia. *Am J Cardiol*. 1989 Nov 1;64(16):1063-6.
43. Bortone AS, Hess OM, Chiddo A, Gaglione A, Locuratolo N, Caruso G, Rizzon P. Functional and structural abnormalities in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 1989 Sep;14(3):613-23.
44. Yamada T, Fukunami M, Ohmori M, Iwakura K, Kumagai K, Kondoh N, Minamino T, Tsujimura E, Nagareda T, Kotoh K, et al. Which subgroup of patients with dilated cardiomyopathy would benefit from long-term beta-blocker therapy? A histologic viewpoint. *J Am Coll Cardiol*. 1993 Mar 1;21(3):628-33.

45. Kawai K, Takaoka H, Hata K, Yokota Y, Yokoyama M. Prevalence, predictors, and prognosis of reversal of maladaptive remodeling with intensive medical therapy in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 1999 Sep 15;84(6):671-6.
46. Ferrans VJ, Roberts WC. Myocardial biopsy: a useful diagnostic procedure or only a research tool? *Am J Cardiol.* 1978 May 1;41(5):965-7.
47. MacKay EH, Littler WA, Sleight P. Critical assessment of diagnostic value of endomyocardial biopsy. Assessment of cardiac biopsy. *Br Heart J.* 1978 Jan;40(1):69-78.
48. Kuhn H, Knieriem HJ, Lösse B, et al. Prognosis and possible presymptomatic manifestations of congestive cardiomyopathy (COCM). In Olsen EGJ, et al.: workshop on multicentre research project in congestive cardiomyopathy. *Postgrad Med J.* 1978; 54: 451-9.
49. Miller PJ. An elastin stain. *Med Lab Technol.* 1971 Apr;28(2):148-9.
50. Pearse AGE. *Histochemistry theoretical and applied.* Vol. I 3rd Ed. London: J & A Churchill, 1968.
51. Lillie RD, Fullmar HM. *Histopathologic technic and practical histochemistry.* 4th edition ed. New York: McGraw- Hill, 1976.
52. Williams EM, Tasgal J, Raine AE. Morphometric changes in rabbit ventricular myocardium produced by long-term beta-adrenoceptor blockade. *Lancet.* 1977 Oct 22;2(8043):850-2.
53. Hess OM, Ritter M, Schneider J, Grimm J, Turina M, Krayenbuehl HP. Diastolic stiffness and myocardial structure in aortic valve disease before and after valve replacement. *Circulation.* 1984 May;69(5):855-65.

54. Pogwizd SM, McKenzie JP, Cain ME. Mechanisms underlying spontaneous and induced ventricular arrhythmias in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1998 Dec 1;98(22):2404-14.
55. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyarsfas I, Martin I, Nordet P. Report of 1995 World Health Organisation/International Society and Federation of Cardiology task force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation*. 1996; 93: 841-842.
56. van der Worp HB, Claus SP, Bar PR, Ramos LM, Algra A, van Gijn J, Kappelle LJ. Reproducibility of measurements of cerebral infarct volume on CT scans. *Stroke*. 2001 Feb;32(2):424-30.
57. Kerr KM, Johnson SK, King G, Kennedy MM, Weir J, Jeffrey R. Partial regression in primary carcinoma of the lung: does it occur? *Histopathology*. 1998 Jul;33(1):55-63.
58. Grotz KA, Krummenauer F, Al-Nawas B, Jaud K, Brahm R, Wagner W. Does ultrasonographic-morphologic staging of lymph nodes in head and neck cancer lend itself to automation? *Ultraschall Med*. 2000 Jun;21(3):93-100.
59. Grimm W, Rudolph S, Christ M, Pankuweit S, Maisch B. Prognostic significance of morphometric endomyocardial biopsy analysis in patients with dilated cardiomyopathy. *Am Heart J*. 2003 Aug;146(2):372-6.
60. Vaughan Williams EM, Tasgal J, Raine AEG. Morphometric changes in rabbit ventricular myocardium by long term beta- adrenoceptor blockade. *Lancet* 1977; ii:850-2.
61. Caspari PG, Newcomb M, Gibson K, Harris P. Collagen in the normal and hypertrophied human ventricle. *Cardiovasc Res* 1977; 11: 554-8.

62. Goldenberg B. Über Atrophie und Hypertrophie der Muskelfasern des Herzens. Virchows Arch [Pathol Anat] 1886; 103: 88-130.
63. Karsner HAT, Saphir O, Todd TW. The state of the cardiac muscle in hypertrophy and atrophy. Am J Pathol 1925; 1: 351-71.
64. Harrison TR, Ashman R, Larson RM. Congestive heart failure. XII. The relation between the thickness of the cardiac muscle fibre and the optimum rate of the heart. Arch Intern Med 1932; 49: 151-64.
65. Roberts JT, Wearn JT, Badal JJ. The capillary- muscle ratio in normal and hypertrophied human hearts. Proc Soc Exp Biol Med 1938; 38: 322-3.
66. Roberts JT, Wearn JT. Quantitative changes in the capillary- muscle relationship in human hearts during normal growth and hypertrophy. Am Heart J 1941; 21: 617-33.
67. Wearn JT. Alliterations in the heart accompanying growth and hypertrophy. Bull Johns Hopkins Hosp 1941; 68: 363-74.
68. Ashley LM. A determination of the diameters of ventricular myocardial fibers in man and other mammals. Am J Anat 1945; 77: 325-63.
69. Lowe TE, Bate EW. The diameter of muscle fibres in the left ventricle in normal hearts and in the left ventricular enlargement of simple hypertension. Med J Aust 1948; i: 467-9.
70. Ishikawa S, Fattal GA, Popiewicz J, Wyatt JP. Functional morphometry of myocardial fibers in cor pulmonale. Am Rev Respir Dis 1972; 105: 358-67
71. Truex RC. Myocardial cell diameters in primate hearts. Am J Anat 1972; 135: 269-80.

72. Davies MJ, Brooksby IAB, Jenkins BS, et al. Left ventricular endomyocardial biopsy. II: The value of light microscopy. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1977; 3:123-30
73. Fuster V, Danielson MA, Robb RA, Broadbent JC, Brown AL Jr, Elveback LR. Quantitation of left ventricular myocardial fibre hypertrophy and interstitial tissue in human hearts with chronically increased volume and pressure overload. *Circulation* 1977; 55: 504-8

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren:

Arnold, Aumüller, Barth, Bartsch, Basler, Baum, Behr, Bertalanffy, Beyer, Bien, Bolm, Christiansen, Czubayko, Dalchow, Daut, Doss, Engel, Engenhardt- Cabillic, Feuser, Folz, Fuchs, Garrel v., Geus, Görg, Gotzen, Grimm, Griss, Gröne, Grzeschik, Habermehl, Happle, Heeg, Hellinger, Hesse, Hofmann, Joseph, Jungclas, Kern, Klenk, Klose, Koolman, Kretschmer, Krieg, Kroll, Külkens, Lang, Lennartz, Leppek, Lippert, Löffler, Lorenz, Maisch, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Oertel, Petermann, Reichardt, Remschmidt, Röhm, Rothmund, Schäfer, Schnabel , Schüffel, Schulz, Schulze, Seyberth, Siegel, Slenczka, Steininger, Vohland, Vogelmeier, Voigt, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Wichert v., Wolf, Zeiler, Zielke.

Danksagung

Ein besonderer Dank geht an Herrn **Prof. Dr. W. Grimm**, der zu jeder Zeit ein sehr engagierter Betreuer war und der mir dieses Thema zur Verfügung stellte.

Weiterhin möchte ich **Herrn Prof. Dr. B. Maisch** danken, in dessen Abteilung ich diese Arbeit anfertigen durfte und dessen Mitarbeiter mich stets freundlich aufnahmen und ohne deren Untersuchungen diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Auch an **Frau Dr. Pankuweit** und das Team des kardiologischen Labors möchte ich meinen Dank richten, sie stellten das Leica® Mikroskop und die Bildanalyse zur Verfügung und halfen mir bei der Einarbeitung dort.

Herrn Prof. Dr. Moll, Leiter des Instituts für Pathologie der Philipps-Universität Marburg möchte ich für die Bereitstellung der aufgearbeiteten Proben danken.

Nicht vergessen möchte ich **Frau Bettina Kohl**, die bei der Zusammenstellung der Patientendaten und vielen anderen Dingen stets sofort geholfen hat.

Dank sagen möchte ich auch **Herrn Prof. Dr. J.A. Werner**, der mich in meiner Zeit als Ärztin im Praktikum von der wissenschaftlichen Tätigkeit in seiner Abteilung freistellte, um diese Arbeit vollenden zu können.

Noch einmal geht mein besonderer Dank an meine Eltern, **Hans-Karl und Erika Rudolph**, die mir dieses Studium und damit diese Arbeit ermöglichten und an meine **Grosseltern**, die ebenfalls sehr viel dazu beigetragen haben, sowie an alle anderen Mitglieder meiner Familie.

Danken möchte ich auch allen Freunden, insbesondere **Herrn Peter Eschstruth**, der in der gesamten Zeit der Entstehung immer an meiner Seite stand,

Frau Dr. A.A. Dünne, **Frau A. C. Wollstein**, **Herrn Dr. D.M. Braulke**, sowie **Herrn J. Heinis**, die vor allem in der letzten Phase der Erstellung dieser Dissertation mich unterstützt und motiviert haben.

Diese Dissertationsarbeit ist im Gedenken an **Frau Daniela Tontsch** entstanden, die mit der Durchführung der Zweitbegutachtung viel zu ihrer Entstehung beigetragen hat.

